

بررسی اثرات محافظت کبدی گیاه بیلهر بر سمیت القاء شده توسط تتراکلریدکربن در موش صحرایی

دکتر هیبت اله صادقی^۱، ایزدپناه قیطاسی^۲، نوراله مزروقی^۳، سهیلا سبزیعلی^۴

*استادیار گروه بیوشیمی - دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، **مربی گروه فیزیولوژی - دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، ***پزشک عمومی - دانشگاه علوم پزشکی یاسوج.

تاریخ دریافت: ۱۵/۹/۱۸ تاریخ تأیید: ۱۵/۱۲/۲۸

چکیده:

زمینه و هدف: امروزه بیماری های کبدی یکی از مشکلات مهم جوامع بشری است. یافتن دارویی مؤثر در درمان این اختلالات مورد توجه محققین و پزشکان می باشد. بیلهر (*Dorema aucheri*) از گیاهان تیره چتریان است و ساکنان مناطق جنوبی کشور از این گیاه استفاده غذایی می نمایند و بر این باورند که خواص دارویی مفیدی نیز دارد. لذا این مطالعه با هدف بررسی اثرات محافظت کبدی عصاره گیاه بیلهر بر مسمومیت القایی ناشی از مصرف تتراکلریدکربن (CCl_4) در موشهای صحرایی انجام شد.

روش بررسی: در یک مطالعه تجربی ۳۰ سر موش صحرایی نر آلبینو از نژاد ویستار به پنج گروه شش تایی تقسیم شدند. یک گروه به عنوان کنترل و در چهار گروه دیگر توسط تتراکلرید کربن سمیت کبدی (هپاتوتوکسیک) ایجاد شد. از این چهار گروه یک گروه به عنوان شاهد و در سه گروه دیگر روزانه به ترتیب ۲۰۰، ۴۰۰ و ۵۰۰ میلی گرم از عصاره پودر گیاه به صورت دهانی داده شد. ۴۵ روز بعد از شروع مطالعه در کلیه گروهها آنزیمهای آلانین آمینوترانسفراز (ALT)، آسپاراتات آمینوترانسفراز (AST) و آلکالین فسفاتاز (ALP) و همچنین غلظت های سرمی پروتئین تام، آلبومین و بیلی روبین که از شاخص های آسیب های کبدی است اندازه گیری و با استفاده از آزمون آماری ANOVA تجزیه و تحلیل گردید.

یافته ها: تزریق درون صفاتی تتراکلرید کربن باعث افزایش فعالیت ALT، ALP، به ترتیب به میزان ۱۱۷/۸۵، ۶۸/۶ و ۱۳۴/۹۷ درصد و کاهش غلظت پروتئین تام و آلبومین و افزایش غلظت بیلی روبین به ترتیب به میزان ۱۶/۸، ۲۰/۳ و ۸۸۰ درصد در مقایسه با گروه کنترل شد ($p < 0/001$). مصرف عصاره گیاه بیلهر سبب گردید این فاکتورها به طور معنی داری ($p < 0/05$) به وضعیت نرمال نزدیک شوند. نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهد عصاره گیاه بیلهر در برابر آسیب های کبدی ایجاد شده توسط تتراکلریدکربن دارای اثرات محافظتی است.

واژه های کلیدی: آلانین آمینوترانسفراز، آسپاراتات آمینوترانسفراز، آلکالین فسفاتاز، بیلهر، تتراکلریدکربن، کبد.

مقدمه:

کبدی کاملاً مشخص نشده است اما بدون شک نمونه های واکنشگر اکسیژن (Reactive Oxygen Species=ROS) نقش مهمی در تغییرات پاتولوژی کبد دارند (۱). غشاهای بیولوژیکی از حساس ترین بخشهای سلولی نسبت به

بیماریهای کبدی یکی از مشکلات جدی و تهدید کننده سلامت جامعه بشری می باشند. امروزه مشخص شده است که استئاتوزیس و فیبروزیس زمینه ساز بروز سیروز کبدی کشنده در انسان است. اگر چه پاتوژنز فیبروزیس

^۱نویسنده مسئول: یاسوج- بلوار شهید مطهری- دانشگاه علوم پزشکی - معاونت پژوهشی - تلفن: ۳۳۳۷۲۴۳-۰۷۴۱- E-mail: sadeghi@yums.ac.ir

آنتی اکسیدانها در محافظت از کبد در این مطالعه خاصیت محافظت کبدی این گیاه در مسمومیت القایی ناشی از مصرف تراکلرید در موش صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفت.

روش بررسی:

بخش های هوایی گیاه بیلهر که مصرف خوراکی دارد در اوایل فصل بهار در سال ۱۳۸۴ از کوههای اطراف شهر یاسوج مرکز استان کهگیلویه و بویراحمد جمع آوری و در شرایط مناسب، دور از نور آفتاب خشک و سپس پودر شد. ۵۰۰ گرم از پودر گیاه بیلهر در مخلوط آب و اتانول به نسبت ۱ به ۱ به مدت ۲۴ ساعت خیسانده و سپس صاف گردید. این عمل طی دو مرحله انجام می گرفت. تحت شرایط خلاء و دمای ۵۰ درجه سانتیگراد عصاره تغلیظ در انکوباتور با دمای ۵۰ درجه سانتی گراد خشک و با آب مقطر دوبار تقطیر به حجم نهایی ۵۰۰ ml رسانده شد. عصاره بدست آمده در ویالهای ۱۰ میلی لیتری تا زمان استفاده در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری گردید (۵).

۳۰ سر موش های صحرایی آلبینو نر از نژاد ویستار و با وزن ۱۸۰ تا ۲۰۰ گرم از حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی اهواز خریداری و به حیوانخانه دانشکده پزشکی یاسوج منتقل گردید. حیوانات به صورت چرخه ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی با دمای ۲۵ درجه سانتی گراد نگهداری که از نظر رژیم غذایی و آب محدودیتی نداشتند. بعد از یک هفته سازگاری حیوانات با شرایط جدید موشها به طور تصادفی به پنج گروه شش تایی تقسیم شدند. گروه اول (گروه کنترل) که روغن زیتون با دوز یک میلی لیتر به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت درون صفاقی دریافت کردند. گروه شاهد (گروه دوم) و گروههای آزمون یک میلی لیتر محلول تراکلرید کربن و روغن زیتون (به نسبت ۱:۱) به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان به صورت درون صفاقی هفته ای دوبار دریافت کردند.

اثرات ROS می باشند. پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده در غشاء های یولوژیکی علاوه بر کاهش سیالیت باعث تخریب آنها می شود (۲). گرچه مکانیسم های محافظتی درون سلولی به میزان زیادی آسیب های ناشی از ROS را کاهش می دهند اما به علت فراوانی تولید این رادیکالهای آزاد وجود راههای محافظتی دیگری بویژه آنتی اکسیدانهای مواد غذایی برای سلامتی انسان بسیار مهم می باشد. وجود ترکیبات طبیعی بویژه نمونه های گیاهی که خاصیت آنتی اکسیدان دارند دارای این ویژگی هاست (۳). تعدادی از گیاهان موجود در طب سنتی کشورهای مختلف به علت داشتن آنتی اکسیدانها خاصیت محافظت کبدی دارند.

از جمله گیاهانی که در سالهای اخیر از نظر خاصیت محافظت کبدی مورد مطالعه قرار گرفته اند *Trichilia* (۴) *Tephrosia purpurea* (۳) *Roobos tea* (۵) *Foeniculum vulgar* (۶) می باشند. در طب سنتی ایران گیاهان زیادی وجود دارد که در ناراحتی های کبدی مصرف آنها سفارش شده اند. برخی از این گیاهان مانند کاسنی، خرفه (۷) و بیلهر (۸) خوراکی هستند.

گیاه بیلهر از خانواده چتریان است که در اوایل فصل بهار در برخی از استانها از جمله کردستان، لرستان، چهارمحال بختیاری، فارس و کهگیلویه و بویراحمد رویش دارد. به عنوان چاشنی در رژیم غذایی ساکنان مناطق مذکور از ساقه و برگ های تازه آن استفاده می شود. بیلهر گیاهی است سرشار از فلاونوئید و اولین گیاه از خانواده چتریان است که این مواد را تراوش می کند (۸). مصرف گیاه بیلهر تری گلیسرید و کلسترول خون را پایین می آورد (۹) اما در مورد دیگر خواص بیولوژیکی آن هیچگونه مطالعاتی صورت نگرفته است. با توجه به وجود انواع فلاونوئید در این گیاه و اینکه برخی فلاونوئیدها خاصیت آنتی اکسیدان دارند و همچنین نقش

یافته ها:

فعالیت آنزیمهای آسپارات آمینوترانسفراز (AST)، آلانین آمینوترانسفراز (ALP) و آلکالین فسفاتاز (ALP) در موشهایی که CCl_4 را به تنهایی دریافت کرده اند (گروه شاهد) در مقایسه با گروه کنترل افزایش معنی داری را نشان می داد (به ترتیب $117/85$ ، $468/6$ و $134/97$ درصد). ولی در موشهای هیپاتوتوکسیک که عصاره گیاه بیلهر به میزان 400 میلی گرم در هر کیلوگرم دریافت کرده اند کاهش معنی داری به میزان $57/54$ ، $64/5$ و $34/42$ درصد در فعالیت آنزیم های ذکر شده مشاهده گردید (جدول شماره ۱).

غلظت پروتئین تام و آلبومین در موشهایی که CCl_4 را به تنهایی دریافت کرده اند (گروه شاهد) در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی داری به میزان $16/8$ و $20/3$ درصد را نشان می دهد ($p < 0/05$). استفاده همزمان از CCl_4 و عصاره گیاه بیلهر باعث افزایش و برگشت غلظت این فاکتورها به حالت نرمال شده است ($p < 0/05$). بر عکس غلظت بیلی روبین تام در گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل بیش از 800 درصد افزایش و مصرف عصاره گیاه بیلهر به میزان 400 میلی گرم در هر کیلوگرم در موش های هیپاتوتوکسیک سبب

گروههای سوم، چهارم و پنجم (گروههای آزمون) پس از تزریق محلول تتراکلرید کربن و روغن زیتون روزانه به ترتیب 200 ، 400 و 500 میلی گرم به ازاء هر کیلوگرم وزن حیوان از عصاره پودر به صورت دهانی دریافت می کردند. در تمام گروهها به صورت هفتگی وزن موشها اندازه گیری شد. 45 روز بعد از شروع مطالعه موشها با دی اتیل اتر بیهوش و از قلب آنها خونگیری شد و پس از بیهوشی نخاعی در موشها کبد آنها به صورت کامل از بدن جدا و بعد از اندازه گیری وزن آنها برای مطالعات هیستولوژیک در فرمالین 10 درصد نگهداری گردید (۳). نمونه خون های بدست آمده 20 دقیقه در شرایط آزمایشگاه نگهداری و بعد از لخته گیری به مدت 15 دقیقه با 2000 دور در دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس سرم هر لوله جمع آوری و ترانس آمینازهای خون (AST و ALP)، آلکالین فسفاتاز، بیلی روبین تام، پروتئین تام و آلبومین اندازه گیری شد (۵، ۱۰).

اطلاعات بدست آمده با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) تجزیه و تحلیل گردید.

جدول شماره ۱: تأثیر عصاره گیاه بیلهر بر میزان آنزیمهای کبدی در موشهای صحرایی هیپاتوکسیک ناشی از تجویز تتراکلریدکربن

گروه	ALT (IU/L)	AST (IU/L)	ALP (IU/L)
کنترل (گروه ۱)	$54/5 \pm 19/9$	$151/25 \pm 15/3$	$304/5 \pm 73$
شاهد (گروه ۲)	$309/9 \pm 90/8^*$	$329/5 \pm 83/4^*$	$715/5 \pm 113/66^*$
گروه ۳	$166/25 \pm 42/5^{**}$	$162/75 \pm 37/02^{**}$	$586/5 \pm 108/37^{**}$
گروه ۴	$110 \pm 31/35^{**}$	$139/9 \pm 25/83^{**}$	$469/25 \pm 62/65^{**}$

ALP=آلکالین فسفاتاز، AST=آسپارات آمینوترانسفراز، ALT=آلانین آمینوترانسفراز. واحد بین المللی در لیتر. -گروه کنترل: دریافت کننده روغن زیتون با دوز یک میلی لیتر به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن موش. -گروه شاهد: دریافت کننده یک میلی لیتر محلول تتراکلرید کربن و روغن زیتون. -گروه ۳: دریافت کننده 200 میلی گرم پودر گیاه بیلهر به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن موش علاوه بر محلول تتراکلرید کربن و روغن زیتون. -گروه ۴: دریافت کننده 400 میلی گرم پودر گیاه بیلهر به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن موش علاوه بر محلول تتراکلریدکربن و روغن زیتون. -کلیه داده ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار می باشد. * $p < 0/001$ نسبت به گروه کنترل، ** $p < 0/001$ نسبت به گروه شاهد، $p < 0/05$ بین گروه ۳ و ۴ در سه متغیر.

جدول شماره ۲: تأثیر عصاره گیاه بیلهر بر غلظت سرمی پروتئین تام، آلبومین، بیلی روبین و درصد وزن کبد در موشهای صحرایی هیپاتوکسیک ناشی از تجویز تتراکلریدکربن

گروه	پروتئین تام (g/dl)	آلبومین (g/dl)	بیلی روبین (g/dl)	وزن بدن/وزن کبد (درصد)
کنترل (گروه ۱)	۶/۲۵±۰/۸۸	۳/۳۵±۰/۳۶	۰/۲۵±۰/۰۴	۳/۹۷±۰/۲۷
شاهد (گروه ۲)	۵/۲±۰/۶۵*	۲/۶۷±۰/۴*	۲/۴۵±۰/۶۲†	۴/۶۸±۰/۵*
گروه ۳	۵/۷۵±۰/۶۷**	۲/۹۲±۰/۴۴	۱/۴۵±۰/۳۸***	۳/۸۷±۰/۶۲***
گروه ۴	۶/۳۵±۱/۱۹**	۳/۴±۰/۴۲**	۰/۹۵±۰/۲۳***	۳/۷±۰/۹۳***

گروه کنترل: دریافت کننده روغن زیتون با دوز یک میلی لیتر به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن موش. - گروه شاهد: دریافت کننده یک میلی لیتر محلول تتراکلریدکربن و روغن زیتون. - گروه ۳: دریافت کننده ۲۰۰ میلی گرم پودر گیاه بیلهر به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن موش علاوه بر محلول تتراکلریدکربن و روغن زیتون. - گروه ۴: دریافت کننده ۴۰۰ میلی گرم پودر گیاه بیلهر به ازاء هر کیلوگرم وزن بدن موش علاوه بر محلول تتراکلریدکربن و روغن زیتون. - کلیه داده ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار می باشد. * $p < 0/05$ نسبت به گروه کنترل، ** $p < 0/05$ نسبت به گروه شاهد، *** $p < 0/001$ نسبت به گروه شاهد، † $p < 0/001$ نسبت به گروه کنترل، $p < 0/05$ بین گروه ۳ و ۴ در کلیه متغیرها.

بحث:

تغییرات ناشی از تتراکلریدکربن شبیه بیماریهای کبدی مزمن ناشی از ویروس ها می باشد. تتراکلریدکربن توسط سیستم سیتوکروم P450 به رادیکالهای آزاد تری کلرومتیل تبدیل می شود. رادیکالهای آزاد تولید شده بطور کووالانسی با غشاء های سلولی و اندامکها متصل می شود و باعث پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع و اختلال در هموستاز کلسیم و در نهایت مرگ سلولی می گردد (۱۰، ۱۱، ۱۲). رادیکالهای آزاد حاصل از CCl_4 با تخریب غشاء هیپاتوسیت افزایش فعالیت آنزیم های نامبرده را سبب شده است و همین عامل باعث شده آنزیمهایی که در حالت طبیعی درون سیتوزول سلولی قرار دارند وارد جریان خون شوند و افزایش فعالیت این آنزیمها بیانگر میزان و نوع آسیب های کبدی است (۱۳). در موشهایی که علاوه بر تتراکلریدکربن عصاره گیاه بیلهر نیز دریافت کرده اند فعالیت این آنزیم ها به صورت وابسته به دوز عصاره در مقایسه با گروه شاهد کاهش معنی داری را نشان داد. برگشت فعالیت آنزیمهای

کاهش ۷۱/۲۲ درصدی غلظت بیلی روبین شده است ($p < 0/001$) (جدول شماره ۲). با توجه به مرگ و میر ۸۰ درصدی موشهای گروه آزمون سه سنجش فاکتورهای بیوشیمیایی این گروه انجام نشد.

مصرف غذا، آب و افزایش وزن در موشهای گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل کمتر و در گروههایی که بطور همزمان CCl_4 و عصاره بیلهر را دریافت کردند مشابه گروه کنترل بود اما از نظر آماری این اختلافات معنی دار نبودند.

نسبت وزن کبد به وزن بدن در گروه شاهد که صرفاً CCl_4 را دریافت کرده اند نسبت به بقیه گروهها افزایش معنی داری را داشته است ($p < 0/05$) (جدول شماره ۲). بررسی های هیستوپاتولوژیک تغییرات با رزی شامل کبد چرب (استئاتوزیس)، نکروز کبدی و فیبروز را در تمام گروههایی که CCl_4 دریافت کرده بودند را نشان می دهد و مصرف عصاره گیاه بیلهر این تغییرات را به میزان زیادی کاهش داده است.

فوق به حالت نرمال توسط عصاره گیاه بیلهر دلیل واضحی بر خاصیت محافظت کبدی عصاره این گیاه است.

کاهش پروتئین تام و آلبومین از جمله علائم پیشرفت بیماریهای مزمن کبدی است و میزان این کاهش شدت آسیب کبدی را نشان می دهد. همچنین تراکلریدکربن با ایجاد آسیب در سلول کبدی باعث افزایش غلظت بیلی روبین می گردد (۱۵،۱۴). در موشهایی که CCl_4 را به تنهایی دریافت کرده اند در مقایسه با گروه کنترل بطور معنی داری کاهش غلظت پروتئین تام و آلبومین و افزایش غلظت بیلی روبین مشاهده می شود. استفاده از عصاره گیاه بیلهر باعث می شود غلظت پروتئین تام، آلبومین و بیلی روبین به حالت نرمال نزدیک شود.

تراکلریدکربن با ایجاد آسیب در سلولهای کبدی باعث می شود فاکتورهای مورد مطالعه در موشهای گروه شاهد در مقایسه با گروه کنترل تغییرات معنی داری نشان دهد ولی عصاره گیاه بیلهر ضمن کاهش تغییرات ناشی از تجویز تراکلریدکربن وضعیت فاکتورهای بیوشیمیایی مذکور را به حالت نرمال نزدیک می کند.

بررسی های هیستوپاتولوژی نمونه های کبدی در موشهای گروه شاهد وجود کبد چرب، از بین رفتن تمامیت هسته سلولی و فیبروزیس را نشان می دهد. عدم وجود و یا کاهش این تغییرات در گروههایی که علاوه بر تراکلریدکربن عصاره گیاه بیلهر را دریافت کرده اند بیانگر خاصیت محافظت کبدی این گیاه می باشد که ممکن است با تثبیت غشاءهای سلولی صورت گیرد. همچنین عصاره این گیاه از افزایش وزن کبد ناشی از تأثیر

تراکلریدکربن به میزان قابل توجهی جلوگیری می کند. نتایج این تحقیق نشان می دهد که عصاره گیاه بیلهر اثر محافظتی کبد در برابر آسیب های ناشی از مصرف تراکلریدکربن داشته است که احتمالاً در ارتباط با خاصیت آنتی اکسیدانی ترکیبات موجود در این گیاه می باشد (۱۶). زیرا آنتی اکسیدان ها نقش بسیار مهمی در محافظت اندامهای داخلی بدن بویژه قلب و کبد دارند (۱۷،۳).

نکته جالب توجه مرگ موشها به میزان ۱۶ درصد در گروههای آزمون دو و ۸۰ درصد در گروه آزمون سوم می باشد که بیانگر سمیت این گیاه در غلظت ۵۰۰ میلی گرم در هر کیلوگرم وزن بدن است. بنابراین می توان بیان داشت علیرغم اثرات محافظت کبدی عصاره گیاه بیلهر، در دوزهای بالا می تواند اثرات سمی نیز داشته باشد. لذا پیشنهاد می شود فیتوشیمی این گیاه بررسی و ترکیبات واجد خواص دارویی آن شناسایی شود.

نتیجه گیری:

نتایج حاصل از این مطالعه نشان می دهند عصاره گیاه بیلهر در برابر آسیب های کبدی ایجاد شده توسط تراکلریدکربن دارای اثرات محافظتی است.

تشکر و قدردانی:

بدینوسیله از مسئول محترم امور پژوهشی دانشکده پزشکی یاسوج بخاطر مهیا نمودن امکانات تحقیق فوق و همچنین سرکار خانم شهربانو عسکریان و آقایان رضا محمدی و مهرزاد جعفری کارشناسان آزمایشگاههای دانشکده پزشکی تشکر و قدردانی می شود.

منابع:

1. Polini G, Parola M. Oxidative damage and fibrogenesis. Biol Med. 1997; 22: 287-305.
2. Sies H. Strategies of antioxidant defence. Eur J Biochem. 1993; 215: 213-19.
3. Ulican O, Greksak M, Vancova O, Zlatos L, Galbavy S, Bozek P, et al. Hepatoprotective effect of Roobos tea (*Aspalathus linearis*) on CCl_4 -induced liver damage in rats. Physiol Res. 2003; 52: 461-66.

4. Sree RM, Srinivasan M. Hepatoprotective effect of *Tephrosia purpurea* in experimental animals. Indian J Pharmacol. 1993; 25: 34-6.
5. Germano MP, Angelo VD, Sanogo R, Catania S, Alma R, Pasquale RD, et al. Hepatoprotective and antibacterial effect of extracts from *Trichilia emetica Vahi* (Meliaceae). J Ethnopharmacol. 2005; 96: 227-32.
6. Ozbek H, Ugras S, Bayram I, Uygan I, Erdogan E, Ozturk A, et al. Hepatoprotective effect of *Foeniculum vulgare* essential oil: a carbon-tetrachloride induced liver fibrosis model in rats. Scan J Lab Anim Sci. 2004; 31: 9-17.
7. زرگری علی. گیاهان دارویی. چاپ چهارم. تهران: انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۶۵، جلد دوم. ۲۱-۲۱۲.
8. Wollenweber E, Dorr M, Rustayan A. *Dorema aucheri*, the first umbelliferous plant found to produce exudates flavonoids. Phytochem. 1995; 38: 1417-27.
9. Hsiao G, Shen MY, Lin KH, Lan MH, Wu LY, Chou DS, et al. Antioxidant and hepatoprotective effect of *Antrodia camphorata* extract. J Agric Food Chem. 2003; 51: 3302-8.
10. Venukumar MR, Latha MS. Hepatoprotective of the methanolic extract of *Curculigo orchoides* in CCl₄-treated male rats. Indian J Pharmacol. 2002; 34: 269-75.
11. Ferre N, Camps K, Cabre M, Paul A, Joven J. Hepatic paraoxygenase activity alterations and free radical production in rats with experimental cirrhosis. Metabolism. 2001; 50: 997-1000.
12. Ozbek H, Ozturk M, Bayram I, Ugras S, Citoglu GS. Hypoglycemic and hepatoprotective effects of *Foeniculum vulgare* Miller seed fixed oil extract in mice and rats. Eastern J Medicine 2003; 8: 35-40.
13. Yang H, Lee MK, Kim YC. Protective activities of stilbene glycosides from *Acer* mono leaves against H₂O₂-induced oxidative damage in primary cultured rat hepatocytes. J Agric Food Chem. 2005; 53: 4182-6.
14. Jayasekhar P, Mohanan PV, Rathinam K. Hepatoprotective activity of ethyl acetate extract of *Acacia catechu*. Indian J Pharmacol. 1997; 29: 426-8.
15. Sethuraman MG, Lalitha KG, Raj Kapoor B. Hepatoprotective activity of *Sarcostemma brevistigma* against carbon tetrachloride-induced hepatic damage in rats. Curr Sci. 2003; 84: 1186-7.
16. Mirzaee A, Hakimi MH, Sadeghi H. Total antioxidant activity and phenolic content of *Dorema aucheri*. Iranian J Biochem Mol Biol. 2005; 1: 116.
17. Aniya Y, Koyama T, Miyagi C, Miyahira M, Inomata C, Kinoshita S, et al. Free radical scavenging and hepatoprotective actions of medicinal herbs, *Crassocephalum crepidioides* from the Okinawa Islands. Biol Pharm Bull. 2005; 28: 19-23.